

VARIACION DE LOS NIVELES DE CALCIO, COBRE, HIERRO, MAGNESIO, MANGANESO Y ZINC, EN EL MUSCULO LISO UTERINO NORMAL Y PATHOLOGICO Y SU ASOCIACION CON EL USO DE ANTICONCEPTIVOS ORALES

Elizabeth Mila de Camargo, MS. *
Eduardo Calderon Gomez, **
Hernán Camargo Plata, MD. ***
José María Velasquez, ****

Resumen:

Este trabajo busca establecer los niveles de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn y Zn en el músculo liso uterino normal y patológico, en mujeres con edades entre 28 y 82 años y su posible relación con el uso de anticonceptivos orales. El nivel de los minerales se estableció por espectrofotometría de Absorción atómica en muestras calcinadas del tejido y mineralizadas por "digestión húmeda" con agua regia. Se estudiaron 107 muestras de las cuales el 27,10% son normales y el 72,90% patológicas. El 42,05% usaron anticonceptivos orales. Se estudiaron casos de miomatosis, miomatosis asociada con adenomiosis y adenomiosis pura.

El estudio estadístico comprende el SAS (Statistical Analysis System), versión 1979. Con este estudio se demostró que la edad y el uso de anticonceptivos orales, no afectaron los niveles de los minerales analizados en el miometrio normal o patológico. En casos de patología primaria del miometrio, se demostró que los niveles de Calcio, Hierro, Magnesio y Zinc aparecieron disminuidos en relación al tejido normal; los niveles de manganeso fueron mayores a los observados en el músculo liso uterino normal. El Cobre no mostró variación significativa.

Summary:

This work was done in order to find the levels of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn and Zn present in normal and pathologic uterine muscle obtained from women aged from 28 to 82 years old and to establish its relation with the use of oral contraceptives. This ana-

lysis includes the quantitative determination of the minerals by atomic absorption. 107 samples were studied; 27,10% were normal and 72,90% were pathologic; 42,05% used oral contraceptives.

The statistical study includes the SAS (Statistical Analysis System), 1979. With this study it was demonstrated that the age and the use of oral contraceptives didn't affect the levels of these minerals in the normal or pathologic myometrium. In the pathologic myometrium it was demonstrated that the levels of Calcium, Iron, Magnesium and Zinc were elevated in relation to normal. The levels of Copper didn't change.

El presente estudio se realizó en la Facultad de Ciencias, en la Facultad de Medicina y en el Centro de Cálculo Electrónico de la Universidad Nacional de Colombia. El material para el estudio fué suministrado por el Laboratorio de Patología de la Clínica Federmán de Bogotá. Fue presentado en el X CONGRESO LATINOAMERICANO DE FARMACOLOGIA Y TERAPEUTICA, en el mes de Noviembre de 1984 en la Ciudad de Quito - Ecuador.

INTRODUCCION

El propósito del presente trabajo es el esclarecimiento de la relación que puede existir entre las variaciones de los niveles de los minerales Calcio, Cobre, Hierro, Magnesio, Manganeso y Zinc y las alteraciones patológicas en el músculo liso uterino. Al revisar la bibliografía correspondiente, no se encuentra nada escrito al respecto y menos aún en las condiciones en las cuales se ha llevado a cabo la experiencia. También se tuvo en cuenta el hecho de que la lesión tumoral benigna más frecuente a nivel del utero es el mioma, tumor derivado de las fibras musculares lisas que componen su pared y que presenta una alta

* Profesora Asociada, Facultad de Medicina, U. Nacional.

** Profesor Titular Emérito, Facultad de Ciencias, U. Nacional.

*** Jefe de la Sección de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, U. Nacional.

**** Profesor. Departamento de Química Facultad de Ciencias, U. Nacional.

incidencia en mujeres de diferentes edades, cuyo estudio ha estado descuidado en los distintos aspectos bioquímicos que pudieran relacionarse con el desarrollo de esta lesión. Aunque el uso de anticonceptivos orales no tiene una evolución muy larga en nuestro medio, se busca una posible asociación entre la miomatosis y el uso de estos compuestos, teniendo en cuenta la variación en los niveles de los minerales mencionados, en el tejido muscular liso uterino. En este estudio se analizaron la miomatosis y la adenomiosis. No se incluyó el leiomiosarcoma, variedad maligna del mioma, debido a su baja incidencia (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11, 12,13,14,15,16,).

Se escogieron los minerales antes mencionados, por ser elementos primordiales en el metabolismo celular como coenzimas y como catalizadores o activadores enzimáticos (17, 18, 19, 20, 21). El Calcio participa en la regulación de la función nerviosa y muscular, acciones hormonales, coagulación sanguínea y movilidad celular; regula la actividad de una gran variedad de enzimas; este mineral se incrementa con la terapia estrogénica (22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32). El Cobre es indispensable para la actividad del citocromo C, de la citocromooxidasa y de otras enzimas importantes en las reacciones celulares de oxido-reducción; interviene en el desarrollo del tejido conectivo y de los vasos sanguíneos y participa en los procesos de cicatrización (28, 30, 33, 34, 35, 36). El Hierro participa en la respiración celular y ciertos tipos de patología celular que pueden estar relacionados con la variación en su oxigenación; es esencial en las reacciones de oxido-reducción en las mitocondrias; interviene en la activación del oxígeno por el citocromo P-450 en los microsomas; hace parte del centro activo de dioxygenasas que participan en la síntesis del colágeno (28, 30, 37). El Magnesio, catión principal de los tejidos blandos, esencial para reacciones enzimáticas que requieren ATP, participa en reacciones de síntesis en la célula y en la bomba de calcio; su aumento disminuye la contracción muscular (23,28,38,39). El Manganese es captado principalmente por las mitocondrias; es necesario para la activación de numerosas enzimas, entre ellas la ATP-asa muscular (28, 38). El Zinc es el componente funcional de enzimas que participan en reacciones de fosforilación y de desfosforilación, así como de oxidoreducción; interviene en los procesos de cicatrización. Su deficiencia aumenta la actividad de la ribonucleasa, disminuye la síntesis del RNA y causa alteraciones en el sistema MFO (Oxidasa de función mixta) microsomal. Posee efecto inmunoregulatorio (23, 28, 35, 40, 41).

Una de las causas por las cuales se tuvo en cuenta el uso de anticonceptivos orales en el presente estudio, es la asociación demostrada de estos elementos, con la presencia de carcinomas

vaginales y endometriales, por su componente estrogénico (42, 43, 44, 45); se ha demostrado también que su uso aumenta el riesgo de carcinoma de seno en las premenopáusicas. Los anticonceptivos orales en bajas dosis, no parecen influir sobre los miomas uterinos, pero si se demuestra aumento de tamaño en ellos, debe suspenderse su uso (5, 7, 11, 26, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54).

PARTE EXPERIMENTAL

El tejido muscular liso uterino normal y patológico, utilizado en el presente estudio, se obtuvo en la Clínica Federman de Bogotá, en un período de 20 meses comprendido entre el 1 de septiembre de 1980 y el 30 de abril de 1982.

Las muestras de músculo liso uterino normal, utilizado como control, provienen de histerectomías practicadas en las pacientes que no estaban recibiendo tratamiento médico alguno, ni padecían de otro tipo de enfermedad diferente a la causa de la histerectomía, procedimiento que se realiza por patología existente en el útero pero no relacionada con el miometrio, sino con otras estructuras uterinas como el exocervix, glándulas endocervicales, endometrio o anexos. Se tuvo en cuenta si las pacientes usaban o no anticonceptivos orales por lo menos un año antes de la histerectomía.

El tejido patológico se obtuvo de pacientes a las cuales se les practicó histerectomía por enfermedad primaria del miometrio. Por consiguiente, se incluyeron los casos de miomatosis, miomatosis combinada con adenomiosis y adenomiosis pura. Se tuvo en cuenta si las pacientes usaron o no anticonceptivos orales por lo menos un año antes de la cirugía.

TABLA I

CLASIFICACION DE LAS 107 PACIENTES A LAS CUALES SE LES PRACTICO HISTERECTOMIA EN LA CLINICA FEDERMAN, DURANTE EL 1º DE SEPTIEMBRE DE 1980 HASTA EL 30 DE ABRIL DE 1982

ESTADOS	USARON ANTICONCEPTIVOS ORALES		NO USARON ANTICONCEPTIVOS ORALES		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
NORMALES	11	10.28	18	16,82	29	27,10
CON MIOMATOSIS	19	17,76	24	22,43	43	40,19
COM MIOMATOSIS Y ADENOMIOSIS	4	3,73	8	7,48	12	11,21
CON OTRAS LESIONES DIFERENTES A LA MIOMATOSIS (ADEMOMIOSIS)	11	10.28	12	11,22	23	21,30
TOTAL	45	42.05	62	57.95	107	100.00

En total se estudiaron 107 muestras (TABLA I), de las cuales el 27,10% son normales y el 72,90%

son patológicas. El 42,05% usaron anticonceptivos orales. La edad de las pacientes osciló entre 28 y 82 años, que se clasificó en cuatro grupos de acuerdo con la fase hormonal, con el fin de estudiar si la edad tiene alguna asociación con los cambios en los niveles de los minerales en el músculo liso uterino:

Grupo 1: Fase hormonal temprana: 28-35 años, 7,48%
 Grupo 2: Fase hormonal avanzada: 36-45 años, 41,12%
 Grupo 3: Fase premenopáusica: 46-50 años, 24,30%
 Grupo 4: Fase menopáusica: 51-82 años, 27,10%

ANALISIS DE LOS MINERALES: Despues de la clasificación anatomo-patológica de las muestras, se analizaron los minerales por Absorción Atómica, empleando el espectrofotómetro de A.A. Varian A-450, programándolo según las especificaciones correspondientes para cada uno de los minerales que se estudiaron (55, 56, 57, 58, 59).

ANALISIS ESTADISTICO: Es un estudio descriptivo con relación de variables (60). Se utilizó un computador digital IBM 360-40 paquete SAS (Statiscal Analysis System), Versión 1979 con el fin de desarrollar los siguientes métodos para este análisis:

- Análisis de varianza en relación al estado patológico, uso de anticonceptivos orales y grupos de edad. Procedimiento GLM (61, 62, 63).
- Análisis de varianza en relación al estado patológico del útero. Procedimiento ANOVA (57, 59, 61, 63, 64).
- Estadística t (distribución Student) según el estado patológico del útero. Procedimiento TEST "t" (61, 62, 63, 64, 65).

RESULTADOS Y DISCUSION

En las TABLAS II y III se consignaron los valores promedios de los niveles de cada uno de los minerales, en los diferentes estados del músculo liso uterino, teniendo en cuenta el uso o no de anticonceptivos orales. También aparecen los valores $PR > F'$ y $PR > /t/$ o probabilidad de error que se comete al rechazar la hipótesis nula con un nivel de significancia del 5%. La hipótesis nula se aceptó cuando el valor $PR > F'$ fué mayor de 0,05, lo cual quiere decir, que las diferencias de los promedios de los minerales, no son estadísticamente significativas, sino que son debidas al azar en un 5%. Los valores se obtuvieron por el análisis de varianza, procedimiento TEST "t" y se demostró que el uso de anticonceptivos orales no varía significativamente los niveles de estos minerales estudiados en el músculo liso uterino normal o patológico. Para los minerales calcio, hierro, magnesio, manganeso y zinc, se observaron

TABLA II
 ANALISIS DE LA VARIACION SIGNIFICATIVA DE LOS NIVELES DE CALCIO, COBRE, HIERRO POR EL USO DE ANTICONCEPTIVOS ORALES SEGUN EL ESTADO PATOLÓGICO DEL MUSCULO LISO UTERINO DE 107 PACIENTES. PROCEDIMIENTO TEST "t"

Estado	Normal		Miomatosis		Miomatosis y Adenomiosis		Adenomiosis	
	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI
Uso anticonceptivos orales N	18	11	24	19	8	4	12	11
CALCIO								
\bar{X} (mg%)	14,26	14,79	3,17	3,14	2,90	2,75	5,83	5,83
S	2,30	2,94	0,56	0,48	0,49	0,26	0,32	0,26
$PR > F'$	0,434		0,480		0,340		0,700	
$PR > /t/ (\#)$	0,680		0,850		0,500		0,990	
(=)	0,680		0,850		0,580		0,990	
COBRE								
\bar{X} (mg%)	0,70	0,66	0,70	0,66	0,66	0,69	0,67	0,67
S	0,04	0,06	0,09	0,10	0,10	0,11	0,06	0,09
$PR > F'$	0,04		0,78		0,73		0,71	
$PR > /t/ (\#)$	0,07		0,19		0,73		0,95	
(=)	0,04		0,19		0,72		0,95	
HIERRO								
\bar{X} (mg%)	4,04	4,30	0,70	0,80	0,65	0,71	1,66	1,61
S	0,70	0,65	0,29	0,21	0,61	0,23	0,28	0,20
$PR > F'$	0,48		0,19		0,55		0,33	
$PR > /t/ (\#)$	0,39		0,21		0,34		0,38	
(=)	0,37		0,22		0,28		0,39	

TABLA III
 ANALISIS DE LA VARIACION SIGNIFICATIVA DE LOS NIVELES DE MAGNESIO, MANGANEZO Y ZINC POR EL USO DE ANTICONCEPTIVOS ORALES SEGUN EL ESTADO PATOLÓGICO DEL MUSCULO LISO UTERINO DE 107 PACIENTES. PROCEDIMIENTO TEST "t"

Estado	Normal		Miomatosis		Miomatosis y Adenomiosis		Adenomiosis	
	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI
Uso anticonceptivos orales N	18	11	24	19	8	4	12	11
MAGNESIO								
\bar{X} (mg%)	7,56	8,80	11,74	11,34	12,91	12,40	7,39	7,85
S	0,85	1,18	1,61	1,24	1,72	2,03	0,91	0,73
$PR > F'$	0,22		0,27		0,65		0,49	
$PR > /t/ (\#)$	0,06		0,38		0,68		0,45	
(=)	0,05		0,38		0,68		0,46	
MANGANEZO								
\bar{X} (mg%)	0,69	0,70	0,29	0,26	0,26	0,32	0,28	0,26
S	0,13	0,13	0,06	0,06	0,04	0,08	0,02	0,01
$PR > F'$	0,92		0,87		0,14		0,82	
$PR > /t/ (\#)$	0,75		0,43		0,30		0,59	
(=)	0,75		0,43		0,16		0,58	
ZINC								
\bar{X} (mg%)	2,71	2,75	1,17	1,16	1,17	1,01	1,03	1,04
S	0,35	0,42	0,08	0,007	0,26	0,21	0,08	0,07
$PR > F'$	0,46		0,73		0,80		0,82	
$PR > /t/ (\#)$	0,82		0,53		0,30		0,68	
(=)	0,81		0,54		0,33		0,68	

los valores $PR > F'$ mayores de 0,05, demostrándose así que las varianzas de los minerales fueron iguales; se analizó entonces el valor $PR > /t/$ para varianzas iguales y se vió que tiene un valor mayor de 0,05 lo cual demostró que no hay diferencia estadísticamente significativa en los niveles de los minerales estudiados en cada uno de los estados patológicos del músculo liso uterino, asociada al uso de anticonceptivos orales. Para el cobre, el valor $PR > F'$ fué menor de 0,05 lo cual indica que las varianzas son desiguales; pero se observó que el valor $PR > /t/$ para varianzas desiguales, fue mayor a 0,05; por lo tanto no existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de cobre, asociadas al uso de anticonceptivos orales y a los estados patológicos del músculo liso uterino.

TABLA IV
 ANALISIS DE VARIANZA DE LOS NIVELES DE Ca, Cu, Fe, Mg, Mn y Zn EN EL MUSCULO LISO UTERINO DE 107 PACIENTES EN RELACION AL ESTADO PATOLÓGICO, USO DE ANTICONCEPTIVOS ORALES Y GRUPO DE EDAD. PROCEDIMIENTO G L M

Fuentes de Variación	Modelo PR>F	Tipo I SS			TIPO IV SS		
		PR>F Estado	PR>F Uso	PR>F Edad	PR>F Estado	PR>F Uso	PR>F Edad
CALCIO	0,0001	0,0001	0,7512	0,1638	0,0001	0,7298	0,1638
COBRE	0,5565	0,9602	0,1080	0,4165	0,9276	0,3216	0,4165
HIERRO	0,0001	0,0001	0,3883	0,9069	0,0001	0,3029	0,9069
MAGNESIO	0,0001	0,0001	0,1549	0,7843	0,0001	0,1117	0,7843
MANGANEZO	0,0001	0,0001	0,7788	0,2879	0,0001	0,3338	0,2879
ZINC	0,0001	0,0001	0,8120	0,4177	0,0001	0,9361	0,4177

NIVEL DE SIGNIFICANCIA $\alpha = 0,05$
 DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA SI $PR > F$ ES MENOR 0,05

En la TABLA IV se observan los resultados obtenidos por medio del análisis de varianza, procedimiento GLM que consta de los estudios para MODELO, tipo I SS y tipo IV SS; se demostró nuevamente que no existe relación directa entre el uso de anticonceptivos orales y la variación de los niveles de los minerales estudiados en el músculo liso uterino normal y patológico, por los valores de $PR > F$ mayores de 0,05 que se obtuvieron. También se demostró que la edad en las pacientes, no afecta significativamente los niveles de los minerales analizados. Los diferentes estados patológicos del músculo liso uterino, afectan de manera significativa los niveles de Ca, Fe, Mg, Mn y Zn; esto se comprobó por los valores $PR > F$ menores de 0,05. Para el Cu el valor de $PR > F$ fué mayor de 0,05, lo cual demostró que no existe variación estadísticamente significativa de este mineral, asociada al estado patológico del músculo liso uterino.

En las gráficas 1,2,3,4,5,6 aparecen las distribuciones porcentuales de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn y Zn en las 107 muestras estudiadas, teniendo en cuenta la patología uterina, una vez comprobado que el uso de anticonceptivos orales no varió significativamente estos niveles.

En la gráfica 7 se muestra el diagrama de barras de los promedios de los minerales estudiados según el estado patológico del músculo liso uterino.

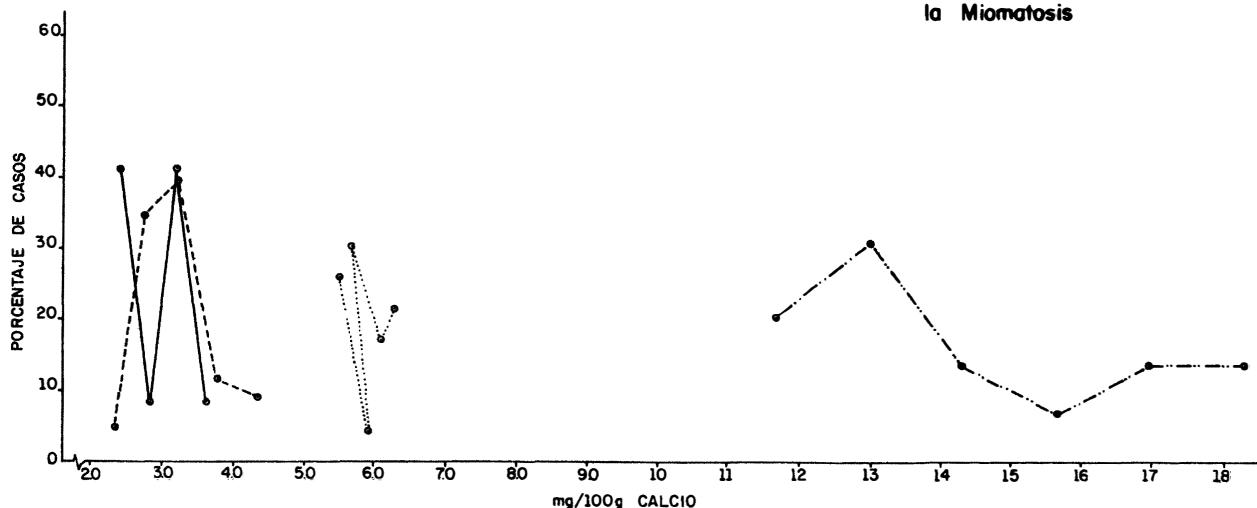
Es de presumir que con la variación en los niveles de estos minerales en el tejido patológico, estén alteradas las funciones biológicas normales de la célula, en especial aquellas reacciones bioquímicas en las cuales estos minerales participan como coenzimas o hacen parte del centro activo de las enzimas que intervienen en dichas reacciones.

CONCLUSIONES

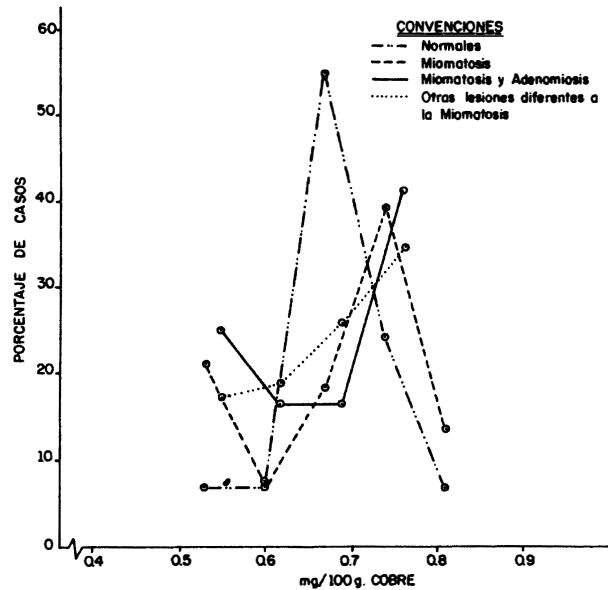
1. La edad y el uso de anticonceptivos orales no tienen relación directa con la variación en los niveles de los minerales estudiados, en las lesiones del músculo liso uterino.
2. En estados patológicos del músculo liso uterino, los niveles de Ca, Fe, Mn y Zn, están disminuidos en relación con el tejido normal.
3. Los niveles de Mg están aumentados en el músculo liso uterino patológico. En adenomiosis pura, esta elevación es ligeramente menor a la observada en casos de miomatosis y de miomatosis combinada con adenomiosis.
4. Los niveles de Cu no varían en patología primaria del músculo liso uterino.

CONVENCIONES

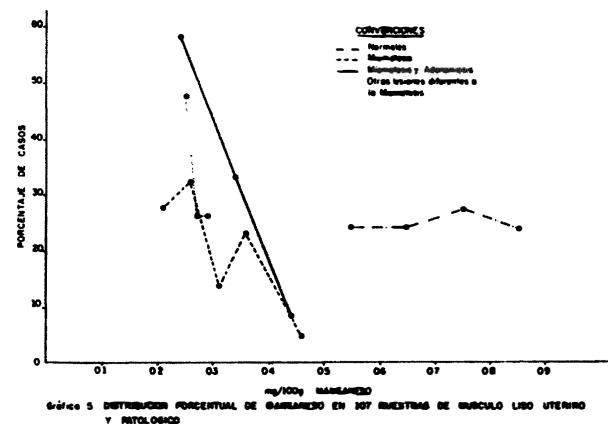
- Normales
- Miomatosis
- Miomatosis y Adenomiosis
- Otras lesiones diferentes a la Miomatosis



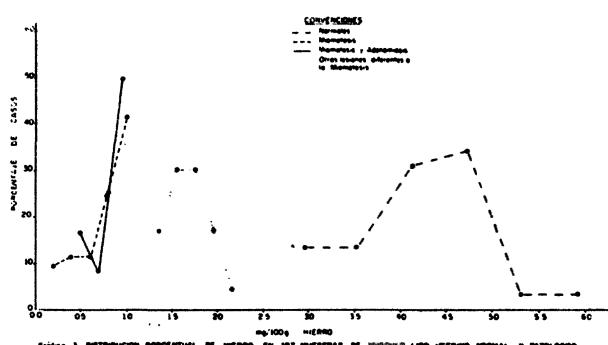
Gráfica 1 DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CALCIO EN 107 MUESTRAS DE MUSCULO LISO UTERINO NORMAL Y PATOLOGICO



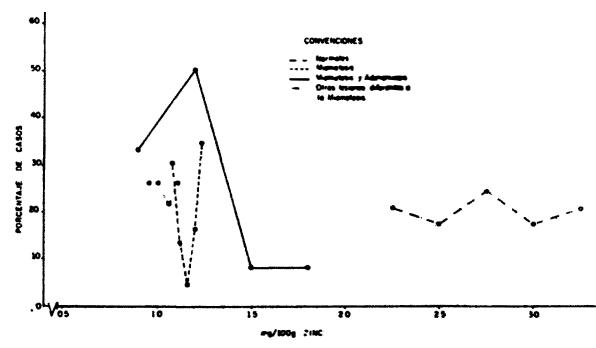
Gráfica 2 DISTRIBUCION PORCENTUAL DE COBRE EN 107 MUESTRAS DE MUSCULO LISO UTERINO NORMAL Y PATHOLOGICO.



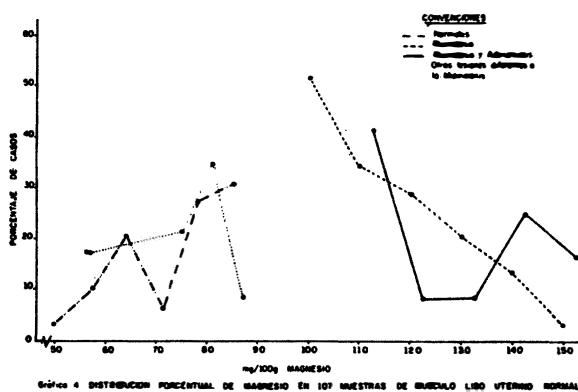
Gráfica 3 DISTRIBUCION PORCENTUAL DE HIERRO EN 107 MUESTRAS DE MUSCULO LISO UTERINO Y PATHOLOGICO



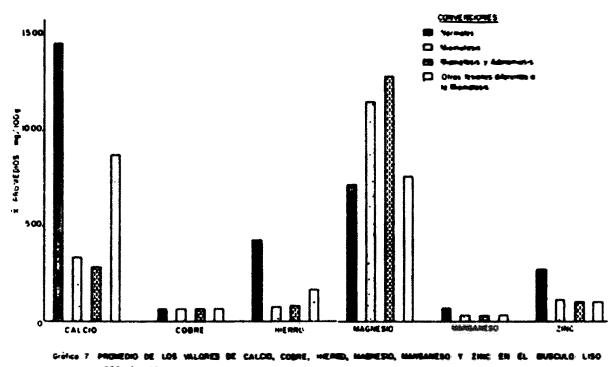
Gráfica 4 DISTRIBUCION PORCENTUAL DE MAGNESIO EN 107 MUESTRAS DE MUSCULO LISO UTERINO NORMAL Y PATHOLOGICO



Gráfica 5 DISTRIBUCION PORCENTUAL DE ZINC EN 107 MUESTRAS DE MUSCULO LISO UTERINO NORMAL Y PATHOLOGICO



Gráfica 6 DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CALCIO EN 107 MUESTRAS DE MUSCULO LISO UTERINO NORMAL Y PATHOLOGICO



BIBLIOGRAFIA

1. ANDERSON W.A.D., "Pathology", 7a. Ed. The C.V. Mosby Company. 2: 1.680-1.775, 1977.
2. BOYCE, C.R. and BUDOHDEV, H.N., "Leiomyoma", *Obstet Gynecol*, 42: 253-258, 1973.
3. CHANG, V. AIKAWA, N. DRUET R., "Uterine Leiomyoblastoma. Ultrastructural and Cytological Studies", *Cancer* 39: 1563-1569, 1977.
4. CHRISTOPHERSON W.M. WILLIAMSON E.O. and GRAY L. A., "Leiomyosarcoma", *Cancer* 29: 1.512-1.517, 1972.

5. EDER M. MMW, "More Myomas Caused by Oral Contraceptives?", 120 50: 1.662, 8Dec, 1978.
6. FECHNER, R.E., "Leiomyoma", Am.J. Clin. Pathol. 49: 697-703, 1968.
7. FERENCZY, A., RICHART, R.M. and OKAGARI, T., "Leiomyoma", Cancer 28: 1.004-1.018, 1971.
8. JUNQUEIRA CARNEIRO, LOPEZ-SAENZ, "Biología Celular", la Ed. La Prensa Médica Mejicana, Méjico, 268-278, 1976.
9. PARMLEY, T.H., et al., "Leiomyomatosis", Obstet Gynecol 46: 511-516, 1975.
10. PEREZ TAMAYO, RUY, "Patología Molecular Subcelular y Celular", Fournier S.A., México, 224-239, 1975.
11. KREUTNER, Jr., JOHNSON, D., and WILLIAMSON, O., "Histology of Endometrium in Long-Term Use of a Sequential Contraceptive", Fertil Steril, 27: 905-910, 1976.
12. ROBBINS y COTRAN, "Patología Estructural y Funcional", Interamericana, Méjico, 2a. Ed. 1181-1178, 1984.
13. ROSAI, F., M.D., "Ackerman's Surgical." London, 1: 993-999, 967-968, 1981.
14. RYWLIN, A.M., RECHER, L., and BENSON J., "Clear Cell Leiomyoma", Cancer 17: 100-104, 1964.
15. STOUT, A.P., "Leiomyoma", Cancer 15: 400-409, 1962.
16. TAYLOR, H.B., and MORRIS, H.J., "Leiomyosarcoma", Arch. Pathol. 82: 40-44, 1966.
17. ARNAU GRAS J., "Enfoque Metabólico" 1^a Ed. Trillas S.A., Mexico, 290, 1979.
18. BERTINO, J.R., "Nutrients, Vitamins and Minerals as Therapy", Cancer 43 (5 Suppl): 2.137-42, 1979.
19. DAVIES, N.T., "Anti-Nutrient Factors Affecting Mineral Utilization", Proc. Nutr. Soc. 38(1): 121-8, 1979.
20. KRUPA, B., "Examination of Trace Element Concentration in the Myometrium of Pregnant Women", Ginekol Pol 2: 147-50, Eng. Abstr., 1979.
21. YOUNG, V.R., et al., "Nutrients, Vitamins and Minerals in Cancer Prevention: Facts and Fallacies", Cancer 43 (5 Suppl): 2.125-36, May 1979.
22. PALADE, P., MITCHELL, R. and FLEISCHER, S., "Spontaneous Calcium Release From Sarcoplasmic Reticulum. General Description and Effects of Calcium", The Journal of Biological Chemistry, 258: 13 8.098-8.107, 1983.
23. PARKER, H.E., "Magnesium, Calcium and Zinc in Animal Nutrition", Perkin-Elmer Atomic Absorption Newsletter No. 13, 1963.
24. JACOBS THOMAS P., et al., "Calcium, Parathyroids, Bone and Stones", Year Book of Medicine, Edit. Year Book Medical Publishers, Inc., Chicago, London, 615-617, 1982.
25. BOLGER, G.T., et al., "Characterization of Binding of the Ca^{++} Channel Antagonist", The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 225: 2, 291-309, 1983.
26. EDVINSSON L., et al., "Calcium Antagonists: Effects on Cerebral Blood flow and Blood-Brain Barrier Permeability in the Rat", Br. J. Pharmac. 79: 141-148, 1983.
27. GALLAGHER, J.C., RIGGS, L.B., and DELUCA, H.F., "Effect of Estrogen on Calcium Absorption and Serum Vitamin D Metabolites in Postmenopausal Osteoporosis", Year Book of Drug Therapy, Year Book Medical Publisher Inc., Chicago, London, 177, 1982.
28. HARPER, H.A., et al., "Harper's Biochemistry," 18 th Lange, California, 1981.
29. IKEMOTO NORIAKI, "Structure and Function of the Calcium Pump Protein of Sarcoplasmic Reticulum", Ann. Rev. Physiol, 44: 297-317, 1982.
30. LEHNINGER, A.L., "Principles of Biochemistry" N Edit. Worth Publishers, Inc., New York, 778-783, 1982.
31. NIGGLI VERENA., "Calcium and Phosphate Transport Across Biomembranes", The Quarterly Review of Biology. 58: 1,77, 1983.
32. WEICHMAN, B.N., et al., "Effects of Calcium Antagonists on Leukotriene D4-Induced Contractions of the Guinea-Pig Trachea and Lung Parenchyma". The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 225: 2, 310-315, 1983.

33. CONFORTI A., et al., "Copper Metabolism During Acute Inflammation: Studies on Liver and Serum Copper Concentration in Normal and Inflamed Rats", *Br. J. Pharmac.* 79 045-052, 1983.
34. HATHCOCK, J.N., "Nutrition: Toxicology and Pharmacology", *Nutrition Reviews*, 34: 3, 65-69, 1976.
35. KRISHNAMURTHY, et al., "Serum Copper and Zinc in Hormonal Contraceptive Users", *The Year Book of Obstetrics and Gynecology*, Edit. Year Book Publisher, Inc. Chicago, London, 381-382, 1981.
36. PROHASKA, J.R. and LUKASEWYCZ, O.A., "Copper intake and Immune Responses", *Nutrition Reviews* 40: No. 4, 1982.
37. COON MINOR J., "Oxygen Activation in the Metabolism of Lipids, Drugs and Carcinogens", *Nutrition Reviews*, 36: 11, 319-327, 1978.
38. GUYTON ARTHUR C., "Textbook of Medical Physiology", Edit. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 6a. Ed., 912-913, 1971.
39. RUDE, R.K. and SINGER, F.R., "Magnesium Deficiency and Excess", *Ann. Rev. Med.* 32: 245-59, 1981.
40. CAMPBELL and JOHNNIE R. HAYES, "Role Nutrition in the Drug-Metabolizing Enzym System", *Pharmacol. Rew.* 26: 3, 171-192, 1974.
41. DUCHATEAU, G., "Oral Zinc and Immunoregulation: A nutritional or Pharmacological Affect or Zinc Supplementation?", *Nutrition Reviews*, 40: 3, 72, 74, 1982.
42. BLYTHE, J.G., et al., "Endometrial Adenocarcinoma in Estrogen, Oral Contraceptive and Nonhormone User's", *Gynecol. Oncol.* 7 2: 199-205, 1979.
43. GOODMAN y GILMAN, "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica", Edit. Panamericana, Buenos Aires, 6a. Edición. 1.404-1.412, 1982.
44. SILVERBERG, S.G., MAKOWSKI, L.E., and ROCHE, W.D., "Endometrial Carcinoma in Women Under 40 Years of Age: Comparison of Cases in Oral Contraceptive Users and Nonusers", *Cancer* 39: 592-598, 1977.
45. ZIEL HARRY K., "Estrogen's Role Endometrial Cancer", *Obst. and Gynecol. Rev.* 60: 4, 509-512, 1982.
46. MARTINEZ, M.J., "Control Hormonal de la Fertilidad Femenina, en Reproducción" de Edgar Cobo, Guillermo López Escobar, Corporación Centro Regional de Población, 613-632, 1979.
47. MEYERS FREDERIK H., JAWETZ ERNEST and GOLDFIEND ALAN., "Farmacología Clínica", Edit. El Manual Moderno, Mexico, 1a. Ed., 441-465, 1980.
48. MISHELL, D.R., "Oral Steroids", *Reproductive Endocrinology Infertility and Contraceptive*, Fadans CO, Philadelphia, 487-523, 1979.
49. ODELL, W.D., et al. WOLFSEN, A.R., "Humoral Syndromes Associated with Cancer", *Ann. Rev. Med.*, 29: 379-406, 1978.
50. ROBBOY, S.J., SCULLY, R.E. WELCH, W.R., HERBST, A. L., "Intrauterine Diethylstilbestrol Exposure and its Consequences", *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 101: 1-5, January, 1977.
51. SPELACY N. WILLIAM, et al., "Prospective Studies of Carbohydrate Metabolism in Normal Women Using Norgestrel for 18 Months", *The Year Book of Obstetrics and Gynecology*, Edit. Year Book Publisher, Inc., Chicago, London, 444, 1982.
52. HUGGINS GEORGE, R., "Contraception Hormonal y Neoplasia", *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 34: 2, pág. 134, 1983.
53. IIDA, C., FUWA, K., and WACHER, W., "A General Method for Magnesium Analysis in Biological Materials by Atomic Absorption Spectroscopy", *Anal. Biochem.* 18, 18, 1967.
54. KAUFMAN DAVID W., et al., "Decreased Risk of Endometrial Cancer Among Oral Contraceptives Users", *The Year Book of Pathology and Clinical Pathology*. Edit Year Book Medical Publisher Inc., Chicago, London, 216-217, 1982.
55. REYES CASTAÑEDA P., "Bioestadística Aplicada", Ed. Trillas, Mejico, 1a. Ed, 104-112, 1980.
56. BERMAN, E.: "Aplication of Atomic Absorption Spectrophotometry in Clinical Chemistry", *Anal. Biochem.* 19,20, 1968.

57. HABER, R., "Estadística General", Fondo Educativo Interamericano S.A., Bogotá, Caracas, 250, 279, 1973.
58. PARKER, H.E., "Some Biological Applications of Atomic Absorption Spectrophotometry", Pekin-Elmer Atomic Absorption Newsletter No. 11, 1963.
59. STEVENZ, B.J. "Clinical Applications of Atomic Absorption Spectroscopy", by Varian Techtron PTY.LTD., Australia, 13, 15, 16, 19, 27, August, 1970.
60. PARDO TELLEZ FRANK, "Programa de Adiestramiento en la Metodología de la Investigación Científica para Docentes de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia", Vice-Decanato, Bogotá, Temas 11 y 12, 1982.
61. BLAIR, CROS and INGOL, "SAS User's Guide", SAS Institute Statistical Analysis System Inc. Box 8.000 Cary, North Carolina, 227, 228, 239-263, 1979.
62. DOUGLAS, SMITH and WOODWARD, "SAS User's Guide: Basics", SAS Institute Inc. Box 8.000 Cary, North Carolina 27511, 768-770, 1982.
63. HELWIG JANE T., trad: KRASNY, M.C., "Guia Introductoria al SAS", SAS Institute Inc. Box 8000 Cary, North Carolina 27511 cap 11, 59-65, 1981.
64. DANIEL W.W., "Bioestadística", Limusa, Mejico 4a. Ed, 133, 3, 66, 193, 1983.
65. STEVENSON, J.W., "Estadística para Administración y Economía", Harla, S.A. de C.V., 240, 304, 1981.